

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-330283

(43) 公開日 平成10年(1998)12月15日

(51) Int.Cl. ⁴	識別記号	F I	
A 6 1 K 38/22	A C J	A 6 1 K 37/24	A C J
	A C L	C 1 2 P 21/02	H
C 1 2 P 21/02		A 6 1 K 37/24	A C L
// C 1 2 N 15/09	Z N A	C 1 2 N 15/00	Z N A A
(C 1 2 P 21/02			

審査請求 未請求 請求項の数 3 F D (全 7 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願平9-158079	(71) 出願人	000183370 住友製薬株式会社 大阪府大阪市中央区道修町2丁目2番8号
(22) 出願日	平成9年(1997)5月30日	(72) 発明者	小北 季世子 大阪市此花区春日出中3-1-98 住友製 薬株式会社内
		(72) 発明者	橋本 学爾 大阪市此花区春日出中3-1-98 住友製 薬株式会社内
		(74) 代理人	弁理士 中村 敏夫

(54) 【発明の名称】 消化管組織再生賦活剤

(57) 【要約】

【課題】新規な消化管組織再生賦活剤を提供する。

【解決手段】 F G F - 1 0 を有効成分として含有する消化管組織再生賦活剤を提供する。消化器系医薬で用いられている種々の粘膜防御因子強化剤と異なり、粘膜を含む胃や腸管の組織全体を再生・賦活する作用を有する。胃酸分泌抑制剤や抗ヘリコバクター・ピロリ剤などの攻撃因子除去剤と併用もでき、慢性消化性潰瘍や潰瘍性大腸炎のような難治性消化管障害に新しい治療方法をもたらすことができる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】線維芽細胞増殖因子10 (FGF-10)、あるいはケラチノサイト増殖因子2 (KGF-2)を有効成分として含有する消化管組織再生賦活剤。

【請求項2】配列番号：1のアミノ酸配列から成るポリペプチド、もしくはその付加、欠失、あるいは置換改変体である増殖因子を有効成分として含有する消化管組織再生賦活剤。

【請求項3】増殖因子が大腸菌宿主が産生する組換えタンパクである請求項1または2の消化管組織再生賦活剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は消化管組織再生賦活剤、より詳しくは、線維芽細胞増殖因子10 (FGF-10)を有効成分として含有する消化管組織再生賦活剤に関する。

【0002】

【従来の技術】最近のH2受容体拮抗剤、プロトンポンプ阻害剤による胃酸分泌抑制技術の発展により、胃潰瘍や十二指腸潰瘍などの消化性潰瘍は、急性の症状悪化は抑制しやすくなった。しかし、消化性潰瘍は再発しやすい疾患であり、胃酸分泌再開後、再発が多いと言われる。維持療法に使用されている胃粘膜防御因子強化剤には、種々の薬剤が使用されているが、再発防止の切り札にはなっていない。また、再発の原因と言われ出したヘリコバクター・ピロリ (*Helicobacter pylori*)に対する抗菌剤療法も、試験的に試されているだけで、効果が確認されたわけではない。依然として、ストレスや抗炎症剤に起因する消化性潰瘍は、高齢者に多い難治疾病である。

【0003】また、若年者に多い潰瘍性大腸炎、クローン病などの非特異性炎症性腸疾患 (*Inflammatory Bowel Disease*)は、腹痛と下痢を主症状とする難治性の慢性疾患であり、免疫が関連するとも言われる。栄養補給とともに、サラゾピリンやステロイドなどの抗炎症剤が治療に用いられるが、ステロイドの連用は、胃潰瘍などの危険な副作用や感染症の危険を伴うことが良く知られている。

【0004】上記の慢性消化器疾患とは別に、悪性腫瘍などの治療のために消化器の組織を切除した場合や慢性膵炎の際にも、種々の消化器機能障害が生じる。これらを総括した病態として、胃手術後症候群 (*Postgastrectomy Disturbances*)や吸収不全症候群 (*Malabsorption Syndrome*)が知られているが、栄養補給以外、特に有効な治療法は無い〔治療：第78巻増刊号、「標準処方ガイド'96」、551～615頁、内山真一郎他編集、南山堂、1996年発行〕。

【0005】一方、線維芽細胞増殖因子10 (FGF-

10)は、京都大学の伊藤らのグループが初めて、組換え製法による発現および生理活性の確認を行った増殖因子である〔特願平8-214378〕。構造的にはFGFファミリーに属し、特にケラチノサイト増殖因子：KGF-1とも呼ばれている線維芽細胞増殖因子7 (FGF-7)と約60%のアミノ酸相同性を有する。また、ほぼ同時期に、グラバー (Gruber, J. R.) 他も、FGF-10と同じアミノ酸配列をコードする、KGF-2遺伝子を発見している [W096/25422: Human Genome Science Inc.]。成長因子と消化管の関係については、上皮細胞成長因子 (EGF) について、乳児の壊死性小腸炎に対する劇的な効果が報告されているものの [P. E. サリバン (P. E. Sullivan) 他、ランセット (*Lancet*)、338巻、53頁、1991年]、FGF-10 (KGF-2) については、このような消化管組織に対する作用は未だ報告されていない。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、難治性の消化管障害患者の消化管組織を賦活し、再生せうる、新規な消化管組織再生賦活剤を提供することにある。

【0007】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、新規なFGFファミリータンパク、FGF-10を遺伝子組換え技術を用いて活性ある形で取得し、その生理活性を実験動物で検討したところ、この因子が消化管細胞賦活作用を有することを見いだした。この知見に基づき、更なる検討の結果、本発明を完成した。すなわち、本発明は、下記の医薬に関するものである。

(1) 線維芽細胞増殖因子10 (FGF-10)、あるいはケラチノサイト増殖因子2 (KGF-2)を有効成分として含有する消化管組織再生賦活剤。

(2) 配列番号：1のアミノ酸配列から成るポリペプチド、もしくはその付加、欠失、あるいは置換改変体である増殖因子を有効成分として含有する消化管組織再生賦活剤。

(3) 増殖因子が大腸菌宿主が産生する組換えタンパクである(1)または(2)の消化管組織再生賦活剤。

【0008】以下、詳細に本発明を説明する。本明細書において、「線維芽細胞増殖因子10 (FGF-10)、あるいはケラチノサイト増殖因子2 (KGF-2)」とは、1996年に伊藤らによって発見されたFGFファミリーの細胞増殖因子 (特願平8-214378)で、配列番号：1のアミノ酸配列を有し、FRSK細胞 (上皮細胞系の培養細胞) などの増殖作用、ラット骨形成促進を有するタンパク質を意味する。以後の説明では、FGF-10の改変体、即ち、配列番号：1のアミノ酸配列から成るポリペプチドの付加、欠失、あるいは置換改変体をも含めて、「FGF-10」と総称す

る。代表的な改変体の作成方法や活性の測定法は、特願平8-214378号明細書に示されている。

【0009】なお、天然FGF-10は糖鎖を有するタンパク質であるが、糖鎖の有無、種類に関わらず、同種の細胞増殖活性を有する限り、FGF-10という概念に含まれるものとする。また、FGF-10成熟タンパク質としては、(1)配列番号：1の40位ロイシン(Leu40)から始まり、208位セリン(Ser208)に終わる169アミノ酸のタンパク質、および、(2)69位セリン(Ser69)に始まり、208位セリン(Ser208)に終わる140アミノ酸のタンパク質、が現在判明しているが、上記のようにFGF-10はこの二種の成熟タンパク質に限定されるものではない。

【0010】「消化管組織再生賦活剤」とは、食道、胃、小腸あるいは大腸の組織の細胞を増殖させ、当該組織の機能を高める薬理効果を有し、難治性消化管障害の治療に用いられる薬剤を意味する。本明細書において、「難治性消化管障害」とは、組織の損傷、消耗や機能異常を伴う慢性消化器疾患のうち、再発性が高く、全身的に消耗をもたらすものを意味する。具体的には、「慢性胃炎・腸炎」、「消化性潰瘍」、「非特異性炎症性腸疾患」、「胃手術後症候群」、「吸収不全症候群」などを含む概念である。

【0011】(製造)本発明の消化管組織再生賦活剤に用いるFGF-10は、固有の生理活性を示すものであれば、天然抽出品、遺伝子組換え品を問わず、精製して本発明に使用することができる。FGF-10の生産方法としては、(1)FGF-10産生組織からの抽出、(2)FGF-10産生細胞(初代培養細胞や株化細胞)の培養および抽出、(3)組換えDNAを導入した宿主細胞の培養および抽出などが考えられるが、一般的には、(3)組換えDNAを導入した宿主からの抽出が大量生産に適している。組換え技術によるFGF-10の製造方法を以下に簡単に記載するが、詳細は、特願平8-214378に記載されている。

【0012】(組換え工程)配列番号：2で示されるDNA配列を含むFGF-10のcDNAを発現ベクターに組み込む。ベクターとしては、適当な大腸菌、枯草菌、酵母、動物昆虫細胞等の宿主内で増殖できるプラスミドやファージが選ばれるが、例えば、大腸菌由来のpBR322、pBR325【*ジーン(Gene)* 4巻121頁(1978)】、枯草菌由来pUB110【*バイオケミカル・バイオフィジカル・リサーチ・コミュニケーション(Biochem. Biophys. Res. Commun.)* 112巻, 678頁(1983)】、COS細胞に好適なpCDM8等が挙げられる。cDNAをプラスミドに組み込む方法としては、常法が、マニアティス(T. Maniatis)他、モレキュラー・クローニング(Molecular cloning

g)、コールドスプリング ハーバー ラボラトリー(Cold spring harbor lab.) 239頁(1982)に記載されている。

【0013】(宿主)宿主は、ベクターの導入により形質転換され、FGF-10を産生できる生物や培養細胞であれば、特に限定されない。細菌としては、大腸菌、枯草菌(バチルス類)等、酵母としては、サッカロマイセス属、トルラ属、ピキア属等、動物細胞としては、COS細胞、CHO細胞、NSO細胞等が代表例である。培養昆虫細胞、真菌、植物細胞、単細胞系だけでなく、目的蛋白質遺伝子を組み込まれた昆虫や哺乳類、植物も宿主の範疇に入る。

【0014】(活性測定)形質転換体から、公知の方法、例えば、コロニー・ハイブリダイゼーション法【*ジーン(Gene)*, 10巻 63頁(1980)】およびDNA塩基配列決定法【*プロシーディングス オブ ナショナル アカデミー オブサイエンス(Proc. Natl. Acad. Sci. USA)* 74巻560頁(1977)】を用い、所望のクローンを選出する。また、COS細胞にて一過性に発現させ、培養上清の生理活性を評価してクローン選択することも可能である。発現されたFGF-10蛋白の生理活性は、FRSK細胞などの培養上皮細胞の増殖促進作用を測定することにより評価できる。

【0015】(精製)組換え技術により生産されたFGF-10蛋白は、生化学の分野で常用される精製方法にて精製が可能である。イオン交換クロマトグラフィー、ゲル濾過、逆相HPLC、硫酸沈澱、限外濾過、SDS-PAGEなどが適宜組み合わせて用いられるが、FGF類の場合、特にヘパリン等のリガンドを用いたアフィニティークロマトグラフィー、抗体カラムクロマトグラフィーなどが大量精製に好適である。FGF-10蛋白に対する抗体は、ポリクローナル、モノクローナル共に、自体公知の方法で作製し得る。FGF-10特異的抗体は抗体カラムに使用出来るだけでなく、ELISA等の免疫化学的定量法に使用できる。

【0016】(製剤)製剤としては、注射剤、経口剤、液剤、凍結乾燥品いずれも用いることが出来るが、特に皮下投与用注射剤が好ましい。これら非経口投与製剤には、当該分野にて公知の安定化剤、担体を用いることができ、使用時に等張溶液として用いるのが好ましい。医薬担体としては、例えば、アルブミン等の血漿由来蛋白、グリシン等のアミノ酸、マンニトール等の糖を用いることができ、通常、皮下あるいは筋肉内投与用凍結乾燥製剤に用いられる。また、水溶液剤、凍結乾燥剤として使用する場合、凝集を防ぐためにTween80などの界面活性剤を添加するのが好ましい。長期の薬効を要する場合は、公知のタンパク除放性製剤担体を用いて製剤する事もできる。

【0017】(使用方法)本発明の消化管組織再生賦活

剤は、主成分：FGF-10を、通常成人キログラムあたり0.5 μ g～5mgを静脈内、皮下、または筋肉内投与する。投与回数は投与量、投与経路や患者の症状により適宜増減されるものであるが、月一回から一日三回の投与が可能であり、一般的には週1から5回、数週間の投薬治療が行われる。この治療により、消化管細胞や組織は賦活され、難治性の消化管障害や低栄養状態が改善される。胃酸分泌抑制剤や抗ヘリコバクター・ピロリ剤などの攻撃因子除去剤と併用も可能である。

【0018】（毒性）正常マウス〔C57BL/6N、雄性、5週齢：日本チャールスリバー社〕に一週間、最大5mg/mgのFGF-10を腹腔内投与したが、体重減少や死亡例はなかった。一般的に毒性は低いと考えられる。

【0019】

【発明の効果】本発明の消化管組織再生賦活剤は、消化管組織細胞の増殖および賦活という新しい機序により、難治性の消化管障害を改善しうる。消化器系医薬で用いられている種々の粘膜防御因子強化剤と異なり、粘膜を含む胃や腸管の組織全体を再生・賦活する作用を有する。胃酸分泌抑制剤や抗ヘリコバクター・ピロリ剤などの攻撃因子除去剤と併用もでき、慢性消化性潰瘍や潰瘍性大腸炎のような難治性消化管障害に新しい治療方法をもたらすことができる。

【0020】

【実施例】以下、本発明を実施例にて説明する。（FGF-10の発現および精製）ヒトFGF-10の構造遺伝子に相当するDNA断片（配列番号：2）と、大腸菌発現ベクターであるpET11c〔ストラタジーン社〕をNdeIおよびBamHIで消化し、アガロースゲル電気泳動にて分取することにより直鎖化したベクターDNAをライゲーションし、大腸菌JM109を形質転換することによりクローン化した。これらの中からFGF-10 cDNAが正しい方向に挿入されたプラスミドを単離し、塩基配列の確認を行い、pET-hFGF-10を得た。これを用いて大腸菌BL21（DE3）を形質転換した。得られた組換えクローンのうちの1つをBL21（DE3）/pET-hFGF-10と名づけ、これを用いてヒトFGF-10の発現生産を行った。

【0021】（培養）BL21（DE3）/pET-hFGF-10をアンピシリン100 μ g/mlを含むLB培地10mlに接種したものを4本用意し、37℃で一晩前培養を行った。翌日それぞれ全量を100 μ g/mlを含むTB培地500ml \times 4本に植え込み37℃で振とう培養した。OD600=0.8に達した時点でIPTGを最終濃度が1mMになるように添加し、培養温度を28℃に下げさらに6時間培養を継続した。

【0022】（抽出精製）培養液を遠心分離し、得られた菌体を50mM Tris-HCl, pH8.0にて1

回洗浄し、1mM EDTA、2 μ g/mlロイペプチン、2 μ g/mlペプスタチン、1mM PMSFを含む50mM Tris-HCl, pH8.0に懸濁した。超音波破碎により菌体を破碎し、ベックマンJ2-21M/E高速冷却遠心機にてJA-20ローターを用いて、15000回転で1時間遠心分離することにより上清を採取した。HiTrap Heparin 5ml〔ファルマシア社〕を50mM Tris-HCl, pH8.0で平衡化し、先に調製した菌体破碎上清をアプライした。続いて50mM Tris-HCl, pH8.0で溶出液のA260がベースラインに戻るまで洗浄した後、連続的にNaCl濃度勾配を3Mまで増加させることにより、蛋白を溶出した。組換えヒトFGF-10に相当する約19kDaの蛋白は約1.2M NaClの位置に溶出された。なお、流速は2ml/分で行った。

【0023】（製剤例）本発明のFGF-10製剤のうち、代表的なものである皮下投与用水溶/凍結乾燥製剤は、以下のように製造することができる。

（1）精製組換えFGF-10：1mgに対し、グリシン0.34mg、マンニトール9mg、非イオン性界面活性剤：ポリソルベート80、0.2mgを加え、燐酸緩衝液1ml（pH7.4、5mM）に溶解させ、上記溶液を凍結乾燥する。（2）150mM塩化ナトリウム、0.01% Tween 80を含有する10mMリン酸緩衝液（pH7.0）でFGF-10を5mg/mlになるように調製し、FGF-10水溶液を得る。

（3）150mM塩化ナトリウム、0.01% Tween 80を含有する10mMリン酸緩衝液（pH7.0）でFGF-10を5mg/mlになるように調製した。続いて、マンニトールを10mg/mlになるように添加し、FGF-10水溶液を得る。無菌的にバイアル充填し、常法に従って凍結乾燥して、FGF-10凍結乾燥製剤を得る。バイアル内に窒素を封入し、打栓する。

【0024】（薬理試験）一群5匹の正常マウス〔C57BL/6N、雄性、5週齢：日本チャールスリバー社〕を自由摂食させ、1および5mg/kgのFGF-10を一日一回一週間投与した（腹腔内投与）。全ての群において最後の投与の5時間後、体重測定のために屠殺し、胃腸などを採取、それぞれ湿重量を計測した。

【0025】FGF-10投与の影響を表1～表2に示す。スチューデントt検定により、FGF-10投与群と対照群の臓器湿重量の有意差を検定した。なお、各群の平均体重（ $\bar{x} \pm \text{SD}$, N=5）は、対照群：14.9 \pm 0.8、FGF-10（1mg/kg）投与群：15.0 \pm 1.1、FGF-10（5mg/kg）投与群：14.4 \pm 1.4で、有意な変動はなかった。

【0026】

表1：正常マウスの胃（stomach）重量

	湿重量 (mg : 平均値±SD)
対照群	122±8
FGF-10 (1mg/kg) 投与群	126±9
FGF-10 (5mg/kg) 投与群	132±4*
	* : p<0.05

【0027】

表2 : 正常マウスの結腸 (colon) 重量

	湿重量 (mg : 平均値±SD)
対照群	286±17
FGF-10 (1mg/kg) 投与群	292±14
FGF-10 (5mg/kg) 投与群	331±13**
	** : p<0.01

【0028】なお、同時に測定した小腸 (for gut)、肺 (lung)、肝臓 (liver)、腎臓 (kidney) については、有意な変動は認められなかった。表1、表2に示すようにFGF-10を投与されたマウス群では、消化管湿重量が有意に増加しており、種々の要因により疲弊した胃や腸の組織を賦活再生する作用が期待される。

【0029】配列番号 : 1

配列の長さ : 208

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : ペプチド

起源

生物名 : ヒト

配列

```

Met Trp Lys Trp Ile Leu Thr His Cys Ala Ser Ala Phe Pro His Leu
 1           5           10          15
Pro Gly Cys Cys Cys Cys Phe Leu Leu Leu Phe Leu Val Ser Ser
          20          25          30
Val Pro Val Thr Cys Gln Ala Leu Gly Gln Asp Met Val Ser Pro Glu
        35          40          45
Ala Thr Asn Ser Ser Ser Ser Ser Phe Ser Ser Pro Ser Ser Ala Gly
        50          55          60
Arg His Val Arg Ser Tyr Asn His Leu Gln Gly Asp Val Arg Trp Arg
65          70          75          80
Lys Leu Phe Ser Phe Thr Lys Tyr Phe Leu Lys Ile Glu Lys Asn Gly
          85          90          95
Lys Val Ser Gly Thr Lys Lys Glu Asn Cys Pro Tyr Ser Ile Leu Glu
        100         105         110
Ile Thr Ser Val Glu Ile Gly Val Val Ala Val Lys Ala Ile Asn Ser
        115         120         125
Asn Tyr Tyr Leu Ala Met Asn Lys Lys Gly Lys Leu Tyr Gly Ser Lys
        130         135         140
Glu Phe Asn Asn Asp Cys Lys Leu Lys Glu Arg Ile Glu Glu Asn Gly
        145         150         155         160
Tyr Asn Thr Tyr Ala Ser Phe Asn Trp Gln His Asn Gly Arg Gln Met
          165          170          175
Tyr Val Ala Leu Asn Gly Lys Gly Ala Pro Arg Arg Gly Gln Lys Thr
          180          185          190
Arg Arg Lys Asn Thr Ser Ala His Phe Leu Pro Met Val Val His Ser
        195          200          205

```

【0030】配列番号 : 2

配列の長さ : 690bp

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 二本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : cDNA

起源

生物名 : ヒト

配列

```

CTTCCAGTAT GTTCCTTCTG ATGAGACAAT TTCCAGTGCC GAGAGTTCCA GTACA ATG   58
TGG AAA TGG ATA CTG ACA CAT TGT GCC TCA GCC TTT CCC CAC CTG CCC   106
GGC TGC TGC TGC TGC TGC TTT TTG TTG CTG TTC TTG GTG TCT TCC GTC   154
CCT GTC ACC TGC CAA GCC CTT GGT CAG GAC ATG GTG TCA CCA GAG GCC   202
ACC AAC TCT TCT TCC TCC TCC TTC TCC TCT CCT TCC AGC GCG GGA AGG   250
CAT GTG CGG AGC TAC AAT CAC CTT CAA GGA GAT GTC CGC TGG AGA AAG   298
CTA TTC TCT TTC ACC AAG TAC TTT CTC AAG ATT GAG AAG AAC GGG AAG   346
GTC AGC GGG ACC AAG AAG GAG AAC TGC CCG TAC AGC ATC CTG GAG ATA   394
ACA TCA GTA GAA ATC GGA GTT GTT GCC GTC AAA GCC ATT AAC AGC AAC   442
TAT TAC TTA GCC ATG AAC AAG AAG GGG AAA CTC TAT GGC TCA AAA GAA   490
TTT AAC AAT GAC TGT AAG CTG AAG GAG AGG ATA GAG GAA AAT GGA TAC   538
AAT ACC TAT GCA TCA TTT AAC TGG CAG CAT AAT GGG AGG CAA ATG TAT   586
GTG GCA TTG AAT GGA AAA GGA GCT CCA AGG AGA GGA CAG AAA ACA CGA   634
AGG AAA AAC ACC TCT GCT CAC TTT CTT CCA ATG GTG GTA CAC TCA TAGAG 684
GAAGGC                                                                    690

```

【手続補正書】

【提出日】平成10年8月18日

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0029

【補正方法】変更

【補正内容】

【0029】

【配列表】

配列番号：1

配列の長さ：208

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

起源

生物名：ヒト

配列

```

Met Trp Lys Trp Ile Leu Thr His Cys Ala Ser Ala Phe Pro His Leu
1           5           10           15
Pro Gly Cys Cys Cys Cys Phe Leu Leu Phe Leu Val Ser Ser
20           25           30
Val Pro Val Thr Cys Gln Ala Leu Gly Gln Asp Met Val Ser Pro Glu
35           40           45
Ala Thr Asn Ser Ser Ser Ser Phe Ser Ser Pro Ser Ser Ala Gly
50           55           60
Arg His Val Arg Ser Tyr Asn His Leu Gln Gly Asp Val Arg Trp Arg
65           70           75           80

```

【提出日】平成10年8月18日

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0029

【補正方法】変更

【補正内容】

```

Lys Leu Phe Ser Phe Thr Lys Tyr Phe Leu Lys Ile Glu Lys Asn Gly
85           90           95
Lys Val Ser Gly Thr Lys Lys Glu Asn Cys Pro Tyr Ser Ile Leu Glu
100          105          110 Ile Thr Ser Val
Glu Ile Gly Val Val Ala Val Lys Ala Ile Asn Ser
115          120          125
Asn Tyr Tyr Leu Ala Met Asn Lys Lys Gly Lys Leu Tyr Gly Ser Lys

```

130 135 140
 Glu Phe Asn Asn Asp Cys Lys Leu Lys Glu Arg Ile Glu Glu Asn Gly
 145 150 155 160
 Tyr Asn Thr Tyr Ala Ser Phe Asn Trp Gln His Asn Gly Arg Gln Met
 165 170 175
 Tyr Val Ala Leu Asn Gly Lys Gly Ala Pro Arg Arg Gly Gln Lys Thr
 180 185 190
 Arg Arg Lys Asn Thr Ser Ala His Phe Leu Pro Met Val Val His Ser
 195 200 205

【提出日】平成 1 0 年 8 月 1 8 日

配列の長さ：6 9 0 b p

【手続補正 2】

配列の型：核酸

【補正対象書類名】明細書

鎖の数：二本鎖

【補正対象項目名】0 0 3 0

トポロジー：直鎖状

【補正方法】変更

配列の種類：c D N A

【補正内容】

起源

【0 0 3 0】配列番号：2

生物名：ヒト

配列

CTTCCAGTAT GTTCCTTCTG ATGAGACAAT TTCCAGTGCC GAGAGTTCCA GTACA ATG 58
 TGG AAA TGG ATA CTG ACA CAT TGT GCC TCA GCC TTT CCC CAC CTG CCC 106
 GGC TGC TGC TGC TGC TGC TTT TTG TTG CTG TTC TTG GTG TCT TCC GTC 154
 CCT GTC ACC TGC CAA GCC CTT GGT CAG GAC ATG GTG TCA CCA GAG GCC 202
 ACC AAC TCT TCT TCC TCC TCC TTC TCC TCT CCT TCC AGC GCG GGA AGG 250
 CAT GTG CGG AGC TAC AAT CAC CTT CAA GGA GAT GTC CGC TGG AGA AAG 298

【提出日】平成 1 0 年 8 月 1 8 日

【補正対象項目名】0 0 3 0

【手続補正 2】

【補正方法】変更

【補正対象書類名】明細書

【補正内容】

CTA TTC TCT TTC ACC AAG TAC TTT CTC AAG ATT GAG AAG AAC GGG AAG 346
 GTC AGC GGG ACC AAG AAG GAG AAC TGC CCG TAC AGC ATC CTG GAG ATA 394
 ACA TCA GTA GAA ATC GGA GTT GTT GCC GTC AAA GCC ATT AAC AGC AAC 442
 TAT TAC TTA GCC ATG AAC AAG AAG GGG AAA CTC TAT GGC TCA AAA GAA 490
 TTT AAC AAT GAC TGT AAG CTG AAG GAG AGG ATA GAG GAA AAT GGA TAC 538
 AAT ACC TAT GCA TCA TTT AAC TGG CAG CAT AAT GGG AGG CAA ATG TAT 586

【提出日】平成 1 0 年 8 月 1 8 日

【補正対象項目名】0 0 3 0

【手続補正 2】

【補正方法】変更

【補正対象書類名】明細書

【補正内容】

GTG GCA TTG AAT GGA AAA GGA GCT CCA AGG AGA GGA CAG AAA ACA CGA 634
 AGG AAA AAC ACC TCT GCT CAC TTT CTT CCA ATG GTG GTA CAC TCA TAGAG 684
 GAAGGC 690

フロントページの続き

(51) Int. Cl.⁶

識別記号

F I

C 1 2 R 1:19)